



Etiología de las infecciones de transmisión sexual (ITS) diagnosticadas por la técnica de PCR múltiple-hibridación en población colombiana de la ciudad de Medellín atendida en el Laboratorio Clínico VID

Etiology of sexually transmitted infections (STIs) diagnosed by multiplex PCR-hybridization assay technique in a Colombian population attending the VID Clinical Laboratory in Medellin

Santiago Estrada-Mesa¹ , Carolina Arango-Pérez²,
Catalina López-Jaramillo³, Dórida Quintero-Calle⁴, Paola Sánchez-Zapata⁵ 

Resumen. Introducción. Las infecciones de transmisión sexual (ITS) son y seguirán siendo un serio problema de salud pública en todo el mundo según los datos de la OMS, con el agravante que la mayoría de los casos son asintomáticos y, además, no existe otro reservorio distinto al humano. El diagnóstico se puede realizar con pruebas tradicionales y moleculares, estas últimas incluyen la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), de las cuales existen varios tipos, entre ellas, la PCR múltiple que tiene la capacidad de detectar ITS polimicrobianas a partir de una sola muestra. El objetivo de este estudio fue establecer cuáles fueron las infecciones de transmisión sexual más frecuentes en diferentes grupos de pacientes, así como determinar la utilidad del uso de la técnica de PCR múltiple en el diagnóstico de las ITS. **Metodología.** Se trata de un estudio observacional de corte transversal realizado entre los años 2021 y 2022 con pacientes que acudieron al servicio de diagnóstico del Laboratorio Clínico VID por sospecha de ITS. Las muestras recolectadas fueron evaluadas utilizando una prueba comercial basada en la técnica de PCR múltiple e hibridación. Las muestras procesadas fueron: orina e hisopados de endocérnix, uretra, recto, faringe y úlceras. **Resultados.** Se estudiaron 1.027 pacientes, de estos, 228 (22,2 %) fueron positivos para diferentes agentes de transmisión sexual, distribuidos así: 50 (21,9 %) mujeres, 129 (56,6 %) hombres heterosexuales

¹ Médico, Especialista en Microbiología y Parasitología Médica. Director General, Laboratorio Clínico VID. Medellín, Colombia. E-mail: sestrada@vid.org.co.

² Administradora en Servicios de Salud, Especialista en Gerencia del Desarrollo Humano, Especialista en Gerencia de la Calidad y Gestión Clínica, Laboratorio Clínico VID. Medellín, Colombia.

³ Bacterióloga y Laboratorista Clínica, Laboratorio Clínico VID. Medellín, Colombia.

⁴ Bacterióloga y Laboratorista Clínica, Laboratorio Clínico VID. Medellín, Colombia.

⁵ Médica, Especialista en Epidemiología, PhD en Ciencias de la Salud. Subdirectora Científica, Clínica Cardio VID. Medellín, Colombia.

Conflicto de interés: los autores declaran que no tienen conflicto de interés.

Medicina & Laboratorio 2023;27:97-109. <https://doi.org/10.36384/01232576.630>.

Recibido el 3 de febrero de 2023; aceptado el 14 de marzo de 2023. Editora Médica Colombiana S.A., 2023[®].

y 49 (21,5 %) hombres que tenían sexo con hombres (HSH). La edad promedio de las mujeres fue 30 años, y la de ambos grupos de hombres fue 36 años. Los microorganismos más frecuentemente identificados en mujeres fueron: *C. trachomatis* (A-K) en 28,6 %, seguido de virus herpes simplex tipo 2 (VHS-2) en 26,8 % y *N. gonorrhoeae* en 17,9 %. En hombres heterosexuales fueron *C. trachomatis* (A-K) en 37,5 %, *N. gonorrhoeae* en 21,5 % y VHS-2 en 18,7 %. En HSH fueron *C. trachomatis* (L1-L3) en 32,7 %, seguido de *N. gonorrhoeae* en 27,6 %, y de *C. trachomatis* (A-K) y VHS-2, ambos en 13,8 %. En 11 hombres heterosexuales, 8 HSH y en 6 mujeres, se identificó infección polimicrobiana. **Conclusiones.** *C. trachomatis* (A-K) fue el microorganismo más prevalente causante de ITS, seguido de *N. gonorrhoeae* en ambos grupos de hombres, y de VHS-2 en las mujeres, muy similar a lo reportado a nivel mundial. La prueba de PCR múltiple permite la detección de infecciones polimicrobianas comúnmente asociadas a ITS y el diagnóstico es preciso y confiable, incluso en pacientes asintomáticos.

Palabras clave: reacción en cadena de la polimerasa, PCR múltiple, diagnóstico molecular, ITS, infecciones de transmisión sexual, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, herpesvirus humano tipo 2.

Abstract. Introduction. Sexually transmitted infections (STIs) are and will continue to be a serious public health problem throughout the world according to WHO data, with the aggravating factor that most cases are asymptomatic and, furthermore, there is no other reservoir other than humans. The diagnosis can be made with traditional and molecular tests, the latter include the polymerase chain reaction (PCR), of which there are several types, among them, multiplex PCR that has the capacity to detect polymicrobial STIs from a single sample. The objective of this study was to establish which were the most frequent sexually transmitted infections in different groups of patients, as well as to determine the usefulness of the multiplex PCR technique in the diagnosis of STIs. **Methodology.** This is an observational, cross-sectional study carried out between 2021 and 2022 with patients who attended the VID Clinical Laboratory for suspected STIs. The collected samples were evaluated using a commercial test based on the multiplex PCR technique and hybridization. The samples processed were: urine and swabs from endocervix, urethra, rectum, pharynx, and ulcers. **Results.** The study included 1,027 patients, of these, 228 (22.2%) were positive for different sexually transmitted agents, distributed as follows: 50 (21.9%) women, 129 (56.6%) heterosexual men and 49 (21.5%) men who had sex with men (MSM). The average age of the women was 30 years, and that of both groups of men was 36 years. The microorganisms most frequently identified in women were: *C. trachomatis* (A-K) in 28.6%, followed by herpes simplex virus type 2 (HSV-2) in 26.8% and *N. gonorrhoeae* in 17.9%. In heterosexual men they were *C. trachomatis* (A-K) in 37.5%, *N. gonorrhoeae* in 21.5% and HSV-2 in 18.7%. In MSM they were *C. trachomatis* (L1-L3) in 32.7%, followed by *N. gonorrhoeae* in 27.6%, and *C. trachomatis* (A-K) and HSV-2, both in 13.8%. Polymicrobial infection was identified in 11 heterosexual men, 8 MSM, and 6 women. **Conclusions.** *C. trachomatis* (A-K) was the most prevalent STI-causing microorganism, followed by *N. gonorrhoeae* in both groups of men, and HSV-2 in women, very similar to that reported worldwide. The multiplex PCR test allows the detection of polymicrobial infections commonly associated with STIs and the diagnosis is accurate and reliable, even in asymptomatic patients.

Keywords: *polymerase chain reaction, multiplex PCR, molecular diagnostics, STIs, sexually transmitted infections, Chlamydia trachomatis, Neisseria gonorrhoeae, human herpesvirus type 2.*

Introducción

Las infecciones de transmisión sexual (ITS) siguen siendo un problema de salud pública en todo el mundo, teniendo en cuenta que cada día más de un millón de personas contraen una ITS, y que la mayoría de los casos son asintomáticos [1]. Se estima que anualmente, unos 374 millones de personas contraen alguna ITS tratable, siendo *Chlamydia trachomatis* (A-K), *Neisseria gonorrhoeae*, *Treponema pallidum* y *Trichomonas vaginalis*, los agentes causales más comúnmente implicados [1]. Se calcula que más de 500 millones de personas entre 15 y 49 años están infectadas con el virus del herpes genital, lo que las convierte en portadoras permanentes de este virus [1]. Los microorganismos que causan ITS incluyen bacterias, virus y parásitos patógenos [1-5], y todos se pueden detectar en portadores sanos [1,6,7]. Las formas de transmisión sexual más comunes son por contacto vaginal, uretral, anal y oral, tanto en hombres como en mujeres [2,3]; teniendo en cuenta lo anterior, es necesario emplear pruebas altamente sensibles y específicas, como las pruebas moleculares, las cuales permiten hacer un diagnóstico confiable, cuyos resultados serán de importancia para la implementación de programas de prevención, control y tratamiento.

El diagnóstico de las ITS se puede realizar con pruebas tradicionales como cultivos, coloraciones como Gram, detección de anticuerpos para virus herpes simplex (VHS) 1 y 2, y examen directo para el diagnóstico de *T. va-*

ginalis, entre otras; lo que significa que es necesario realizar una prueba diferente para cada microorganismo. Adicionalmente, las sensibilidades y especificidades de los diferentes métodos tradicionales pueden variar. Por ejemplo, en el caso de *N. gonorrhoeae*, la sensibilidad del cultivo es solo del 50 % al 85 %, sin embargo, la coloración de Gram puede tener una sensibilidad y especificidad mayores al 95 % para diagnosticar infecciones uretrales, pero carece de valor en el caso de mujeres y hombres asintomáticos [8]. Por su parte, la sensibilidad del cultivo para VHS varía entre 30 % y 70%, y en ausencia de lesiones las pruebas serológicas para el VHS-2, en particular la especificidad, puede ser tan baja como del 39,8 % [9]. Por último, el examen directo para la detección de *T. vaginalis* reporta una sensibilidad solo del 51 % al 65 % [10].

Actualmente se cuenta con pruebas moleculares como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que permite identificar en una sola muestra de forma simultánea varios microorganismos, tanto en pacientes sintomáticos como asintomáticos (en estos últimos las pruebas tradicionales tienen muy poca utilidad). Entre sus desventajas están las barreras de acceso por costo, aspecto discutible, puesto que la PCR detecta varios microorganismos de manera simultánea [5-7], en tanto que con las pruebas tradicionales hay que realizar una prueba diferente por cada microorganismo. Otro factor que se ha considerado como una desventaja, es el hecho de que solo se ofrecen

en laboratorios clínicos de alto nivel de complejidad, lo cual no debería ser un inconveniente, ya que la muestra (hisopado u orina) se puede tomar en laboratorios de menor nivel y remitir, teniendo en cuenta las recomendaciones de bioseguridad para el transporte y envío de muestras.

Respecto a la situación de las ITS en Medellín, destacamos dos estudios recientemente publicados, en donde en un grupo seleccionado de pacientes habitantes de la calle, se encontró que la prevalencia de *N. gonorrhoeae* era de 22,6 %, seguido de *C. trachomatis* (A-K) con 19,2 % [11]. Asimismo, en el otro estudio realizado en "personas con experiencia de vida en la calle", se encontró que la prevalencia de *N. gonorrhoeae* y *C. trachomatis* (A-K) era de 18 % y 14,6 %, respectivamente [12].

El objetivo de este estudio fue establecer cuáles fueron las infecciones de transmisión sexual más frecuentes en diferentes grupos de pacientes que acuden al Laboratorio Clínico VID de la ciudad de Medellín, Colombia, así como determinar la utilidad de la detección molecular de los diferentes microorganismos, mediante la técnica de PCR múltiple combinada con hibridación de tipo dot-blot reverso, para el diagnóstico de las ITS.

Metodología

Tipo de estudio y criterios de inclusión

Estudio observacional descriptivo de corte transversal realizado entre los años 2021 y 2022 con pacientes que acudieron al servicio de diagnóstico del Laboratorio Clínico VID en la ciudad de Medellín, Colombia, por sospe-

cha de una ITS. Los datos fueron recolectados de forma retrospectiva donde se incluyeron variables como: tipo de paciente (mujer, hombre heterosexual y hombre que tiene sexo con hombre [HSH]), edad promedio, número de parejas en el último año y tipo de muestra recolectada. Como criterios de inclusión, los pacientes debían cumplir con las siguientes condiciones previas a la toma de las muestras: no haber recibido tratamiento con antibióticos, antivirales o antiparasitarios en los últimos 10 días; y cumplir con las condiciones para la recolección de las muestras que se describen en la **tabla 1**.

Descripción de la prueba utilizada

Para la detección de los microorganismos causantes de ITS, se empleó la técnica de PCR múltiple combinada con hibridación de tipo dot-blot reverso (STD Direct Flow Chip, Vitro Diagnóstica®). El kit comercial STD Direct Flow Chip utilizado, se basa en la amplificación simultánea del ADN de bacterias, virus y protozoos mediante PCR múltiple (a partir de extractos celulares derivados de las muestras), seguida de hibridación sobre membrana de nylon, en dispositivo tipo microarreglo con sondas de ADN específicas mediante la tecnología DNA-Flow y plataformas HybriSpot automatizadas. Esta tecnología permite la detección de los ácidos nucleicos de *Chlamydia trachomatis* (A-K), *Chlamydia trachomatis* (L1-L3), *Haemophilus ducreyi*, virus herpes simplex tipo 1 (VHS-1) y virus herpes simplex 2 (VHS-2), *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Treponema pallidum*, *Trichomonas vaginalis* y dos especies de *Ureaplasma* (*urealyticum/parvum*). Según los datos de la casa comercial, la especificidad diagnóstica es del 100 % para todos los mi-

Tabla 1. Condiciones necesarias para la recolección de cada tipo de muestra

Muestra	Condiciones para la toma de la muestra
Orina	Recolectar la porción inicial de la primera orina de la mañana sin descartar nada, o de la orina de cualquier hora del día que haya permanecido mínimo 3 horas retenida en la vejiga
Hisopado uretral	No haber orinado mínimo 3 horas antes de la toma de la muestra
Hisopado endocervical	No haberse aplicado cremas, ungüentos, supositorios ni duchas vaginales mínimo 5 días antes de la toma de la muestra
Hisopado rectal	Tener la ampolla rectal vacía y no haberse aplicado cremas, ungüentos, supositorios ni duchas rectales por un periodo de tiempo mínimo de 24 horas previo a la toma de la muestra
Hisopado de úlcera	No haberse aplicado cremas ni ungüentos
Hisopado faríngeo	No haberse aplicado enjuagues bucales en el día de la toma de la muestra

croorganismos que detecta la prueba, y con una sensibilidad diagnóstica del 100 % para la mayoría de los microorganismos, a excepción de *M. genitalium* (95,83 %), *C. trachomatis* (A-K) (99,21 %) y *Ureaplasma (urealyticum/parvum)* (99,47 %). En la **figura 1** se observa un ejemplo de un resultado positivo para *M. genitalium*, *M. hominis* y VHS-2, y en la **figura 2** el reporte.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis descriptivo, teniendo en cuenta las características de las variables. Las variables cuantitativas se presentaron con media y desviación estándar. Adicionalmente, se calculó el porcentaje para cada uno de los microorganismos identificados y el porcentaje de cada microorganismo por grupo de estudio. Para las variables cualitativas, la descripción se realizó en frecuencias absolutas y relativas. La recolección y el análisis de los datos fueron aprobados de acuerdo con las disposiciones institucionales y legales por las cuales se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud, y dadas en la resolución 8430 de 1993, que considera a esta investigación como sin riesgo.

Resultados

En total se recolectaron y procesaron 1.027 muestras para diagnóstico de ITS mediante la técnica de PCR múltiple. De estas, 228 (22,2 %) fueron positivas para agentes de transmisión sexual, distribuidos por tipo de paciente así: 50 (21,9 %) fueron de mujeres, 129 (56,6 %) de hombres heterosexuales, y 49 (21,5 %) de HSH. La edad promedio en el grupo de las mujeres fue de 30 años, mientras que la de los hombres fue de 36 años (para ambos grupos). En cuanto al número de parejas en el último año, las mujeres tuvieron en promedio dos parejas, los hombres heterosexuales cuatro y los HSH seis.

Los cuatro microorganismos más frecuentemente identificados en los tres grupos fueron: *C. trachomatis* (A-K) en 78 (34,2 %) pacientes, seguido por *N. gonorrhoeae* en 57 (25,0 %), VHS-2 en 50 (21,9 %) y *Mycoplasma genitalium* en 25 (11,0 %). En cuanto al tipo de muestra por tipo de paciente, la muestra más frecuente en el grupo de las mujeres fue el hisopado endocervical con un total de 27 (54,0 %) muestras, en los hombres heterosexuales fue la orina con 96 (74,0 %) y en los HSH fue el hisopado rectal con 49 (100 %) muestras (**tabla 2**).

Microorganismos detectados

Chlamydia trachomatis

C. trachomatis (A-K) se reportó en los tres grupos de pacientes (**tabla 2**),

así: en los hombres heterosexuales en un 37,5 %, seguido de las mujeres en un 28,6 % y en HSH en un 13,8 %. La mayoría de los hombres reportó disuria y secreción uretral, en tanto que en el grupo de los HSH la mayoría pre-

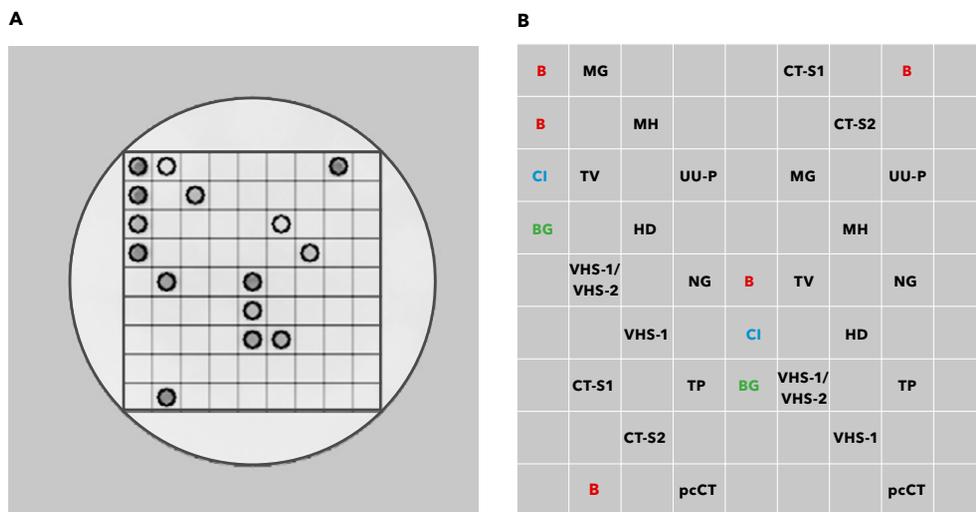


Figura 1. Dot-blot reverso posterior a la amplificación de ADN para tres microorganismos (*M. genitalium*, *M. hominis* y VHS-2) identificados en un mismo paciente. A) Resultado del paciente y controles; B) plantilla para la interpretación de los resultados. MG: *Mycoplasma genitalium*; MH: *Mycoplasma hominis*; TV: *Trichomonas vaginalis*; UU-P: *Ureaplasma (urealyticum/parvum)*; HD: *Haemophilus ducreyi*; VHS-1: virus herpes simplex tipo 1; VHS-2: virus herpes simplex tipo 2; TP: *Treponema pallidum*; NG: *Neisseria gonorrhoeae*; CT-S1 + CT-S2: *Chlamydia trachomatis* (A-K); CT-S2: *Chlamydia trachomatis* (L1-L3); B: control de la hibridación; CI: control de amplificación exógena; BG: control de amplificación endógena.

ANÁLISIS	RESULTADOS	UND.	V/REFERENCIA
DETECCIÓN DE AGENTES DE TRANSMISIÓN SEXUAL POR PCR			
AGENTES DE TRANSMISIÓN SEXUAL POR PCR			
RESULTADO	POSITIVO		NEGATIVO
<i>Mycoplasma genitalium</i>	POSITIVO		NEGATIVO
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	NEGATIVO		NEGATIVO
<i>Trichomonas vaginalis</i>	NEGATIVO		NEGATIVO
Herpes Virus Simplex 1 (HVS-1)	NEGATIVO		NEGATIVO
Herpes Virus Simplex 2 (HVS-2)	POSITIVO		NEGATIVO
<i>Treponema pallidum</i>	NEGATIVO		NEGATIVO
<i>Haemophilus ducreyi</i>	NEGATIVO		NEGATIVO
<i>Chlamydia trachomatis</i>	NEGATIVO		NEGATIVO
<i>Chlamydia trachomatis</i> (A-K)	NEGATIVO		NEGATIVO
<i>C. trachomatis</i> (L1-L3) Linfogramuloma venéreo	NEGATIVO		NEGATIVO
MUESTRA	ORINA		
Muestra remitida. Se desconocen las condiciones de la toma, transporte y almacenamiento.			
Método: PCR y reverse dot blot			

Figura 2. Resultado positivo para *Mycoplasma genitalium* y virus herpes simplex 2. No se reportó *Mycoplasma hominis* (ver conclusiones).

sentó disquemia con secreción escasa. Por su parte, las mujeres en su mayoría eran asintomáticas.

En las mujeres, *C. trachomatis* (A-K) no se detectó junto con ningún otro microorganismo, sin embargo, en el grupo de hombres heterosexuales hubo infección polimicrobiana con *N. gonorrhoeae*, *M. genitalium*, VHS-2 y *T. vaginalis*, y en HSH junto con *N. gonorrhoeae*, como se observa en la **tabla 3**.

Por su parte, *C. trachomatis* (L1-L3) se reportó en los tres grupos de pacientes (**tabla 2**), así: en HSH en un 32,7 %,

seguido de hombres heterosexuales en un 2,1 % y en mujeres en un 1,8 %. Cuando se identificó infección polimicrobiana (**tabla 3**), se detectó en el grupo de HSH junto con *N. gonorrhoeae*, VHS-2 y *M. genitalium*.

Neisseria gonorrhoeae

N. gonorrhoeae se reportó en los tres grupos de pacientes (**tabla 2**), así: en HSH en el 27,6 %, en hombres heterosexuales en el 21,5 % y en mujeres en el 17,9 %. Los dos casos en los que se aisló en faringe ocurrieron en hombres heterosexuales (**tabla 2**), asintomáti-

Tabla 2. Total de microorganismos identificados por orden de frecuencia en mujeres, hombres heterosexuales y hombres que tienen sexo con hombres (HSH)

Características	Mujeres n (%)	Hombres heterosexuales n (%)	HSH n (%)	Total n (%)
Muestras procesadas	272	701	54	1.027
Muestras positivas	50 (21,9)	129 (56,6)	49 (21,5)	228 (22,2)
Edad promedio en años (*)	30 (7,5)	36 (10,6)	36 (10,2)	34 (11,4)
Parejas en el último año (*)	2 (1,1)	4 (1,9)	6 (4,1)	4 (2,0)
Microorganismos identificados	56	144	58	258
<i>C. trachomatis</i> (A-K)	16 (28,6)	54 (37,5)	8 (13,8)	78 (34,2)
<i>N. gonorrhoeae</i>	10 (17,9)	31 (21,5)	16 (27,6)	57 (25,0)
Virus herpes simplex 2	15 (26,8)	27 (18,7)	8 (13,8)	50 (21,9)
<i>M. genitalium</i>	4 (7,1)	18 (12,5)	3 (5,2)	25 (11,0)
<i>C. trachomatis</i> (L1-L3)	1 (1,8)	3 (2,1)	19 (32,7)	23 (10,0)
Virus herpes simplex 1	6 (10,6)	3 (2,1)	3 (5,2)	12 (5,3)
<i>T. vaginalis</i>	2 (3,6)	5 (3,5)	0	7 (3,0)
<i>T. pallidum</i>	2 (3,6)	3 (2,1)	1 (1,7)	6 (2,6)
Tipo de muestra				
Orina	17 (34,0)	96 (74,0)	0	113
Hisopado rectal	0	0	49 (100)	49
Hisopado endocervical	27 (54,0)	0	0	27
Hisopado de úlcera genital	6 (12,0)	14 (11,0)	0	20
Hisopado uretral	0	17 (13)	0	17
Hisopado faríngeo	0	2 (2,0)	0	2

(*) Desviación estándar.

Tabla 3. Detección de infecciones polimicrobianas en los grupos de pacientes evaluados

Tipo de paciente	Más de un microorganismo identificado	Casos
Mujeres	VHS-1 más VHS-2	2
	<i>N. gonorrhoeae</i> más VHS-2	2
	<i>M. genitalium</i> más VHS-2	1
	<i>N. gonorrhoeae</i> más <i>T. vaginalis</i>	1
Hombres heterosexuales	<i>N. gonorrhoeae</i> más <i>T. vaginalis</i>	2
	<i>N. gonorrhoeae</i> más VHS-1 más VHS-2	1
	<i>N. gonorrhoeae</i> más <i>M. genitalium</i> más VHS-2 más <i>C. trachomatis</i> (A-K)	1
	<i>N. gonorrhoeae</i> más VHS-1	1
	<i>T. vaginalis</i> más VHS-2	1
	<i>C. trachomatis</i> (A-K) más VHS-2	1
	<i>C. trachomatis</i> (A-K) más <i>T. vaginalis</i>	1
	<i>N. gonorrhoeae</i> más <i>C. trachomatis</i> (A-K)	1
	<i>M. genitalium</i> más VHS-2	1
<i>M. genitalium</i> más <i>C. trachomatis</i> (A-K)	1	
HSH	<i>C. trachomatis</i> (L1-L3) más <i>N. gonorrhoeae</i>	3
	VHS-2 más VHS-1	1
	<i>C. trachomatis</i> (A-K) más <i>N. gonorrhoeae</i>	1
	<i>C. trachomatis</i> (L1-L3) más VHS-2	1
	<i>C. trachomatis</i> (L1-L3) más <i>M. genitalium</i>	1
	<i>C. trachomatis</i> (L1-L3) más <i>N. gonorrhoeae</i> más VHS-2	1

VHS: virus herpes simplex; HSH: hombres que tienen sexo con hombres.

cos, y ambos pacientes solicitaron la prueba solo por haber tenido sexo oral. Cuando se identificó infección polimicrobiana (**tabla 3**), *N. gonorrhoeae* se detectó en las mujeres junto con VHS-2 y *T. vaginalis*. En los hombres heterosexuales se detectó junto con *T. vaginalis*, VHS-1, VHS-2, *C. trachomatis* (A-K) y *M. genitalium*. En HSH se detectó asociado a *C. trachomatis* (A-K), *C. trachomatis* (L1-L3) y VHS-2.

Mycoplasma genitalium

M. genitalium se detectó en los tres grupos de pacientes (**tabla 2**), así: en los hombres heterosexuales en un 12,5 %,

seguido de mujeres en un 7,1 % (todas asintomáticas) y en HSH en un 5,2 %. Cuando se identificó infección polimicrobiana (**tabla 3**), *M. genitalium* se identificó en el grupo de mujeres junto con VHS-2, en los hombres heterosexuales se detectó junto con *N. gonorrhoeae*, VHS-2 y *C. trachomatis* (A-K). En los HSH solo se detectó en un paciente junto con *C. trachomatis* (L1-L3).

Virus herpes simplex tipo 1

El VHS-1 se detectó en los tres grupos de pacientes (**tabla 2**), así: en las mujeres en un 10,6 %, seguido de HSH en un 5,2 % y en hombres heterosexuales

en un 2,1 %. Cuando se identificó infección polimicrobiana (**tabla 3**), VHS-1 se detectó junto con VHS-2 en el grupo de mujeres, con *N. gonorrhoeae* y VHS-2 en los hombres heterosexuales, y con VHS-2 en el grupo de los HSH.

Virus herpes simplex tipo 2

El VHS-2 se reportó en los tres grupos de pacientes (**tabla 2**), así: en mujeres 26,8 %, en hombres heterosexuales 18,7 % y en HSH 13,8 %. Cuando se identificó infección polimicrobiana (**tabla 3**), el VHS-2 se detectó junto con el VHS-1, *N. gonorrhoeae* y *M. genitalium* en el grupo de mujeres. En los hombres heterosexuales se detectó junto con *N. gonorrhoeae*, VHS-1, *M. genitalium*, *C. trachomatis* (A-K) y *T. vaginalis*. En los HSH también se detectó asociado a VHS-1, *C. trachomatis* (L1-L3) y *N. gonorrhoeae*.

Treponema pallidum

T. pallidum se reportó en los tres grupos de pacientes (**tabla 2**), así: en mujeres 3,6 %, en una de ellas se detectó en orina, seguido de hombres heterosexuales 2,1 % y finalmente en HSH en el 1,7 %. En los pacientes evaluados no se encontró coinfección con ningún otro microorganismo.

Trichomonas vaginalis

T. vaginalis se reportó en los grupos de hombres heterosexuales y mujeres (**tabla 2**), así: mujeres en el 3,6 %, seguido de hombres heterosexuales en el 3,5 %. Cuando se identificó infección polimicrobiana (**tabla 3**), se detectó junto con *N. gonorrhoeae* en el grupo de mujeres, y en los hombres heterosexuales con *N. gonorrhoeae*, VHS-2 y *C. trachomatis* (A-K).

Finalmente, los microorganismos más frecuentes en el grupo de mujeres y en

los hombres heterosexuales fue *C. trachomatis* (serotipos A-K) con un 28,6 % y 37,5 %, respectivamente, y en los HSH fue *C. trachomatis* (serotipos L1-L3) en el 32,7 %.

Discusión

En la última década, las pruebas moleculares han reemplazado los métodos microbiológicos tradicionales para el diagnóstico de las enfermedades infecciosas, siendo las ITS un grupo de interés prioritario [5-7,11-14]. Es así como utilizando técnicas como la PCR múltiple, se pueden detectar uno o varios agentes etiológicos a partir de una única muestra, para llegar a un diagnóstico definitivo de ITS. Este escenario es menos frecuente con los métodos tradicionales, donde para detectar infecciones polimicrobianas, es necesario realizar diferentes pruebas, una prueba individual para cada microorganismo que se sospecha, y en muchos casos a partir de múltiples muestras. Además de lo anterior, las pruebas microbiológicas tradicionales, especialmente los cultivos, pueden requerir desde uno a varios días de incubación hasta obtener el aislamiento e identificación del patógeno de interés, como sucede con las infecciones causadas por VHS-1 y *C. trachomatis*, y hasta 6 semanas como es el caso de la infección por *M. genitalium* [2,15,16]. Otras limitantes asociadas al uso de las pruebas tradicionales, incluyen una menor sensibilidad y especificidad, la baja probabilidad para la detección de individuos portadores de ITS, y su incapacidad para la detección de infecciones polimicrobianas en un mismo paciente o muestra, en cuyo caso se debe realizar una prueba para cada microorganismo, y con poca o nada de utilidad en pacientes asintomáticos.

En este estudio, se observó que *C. trachomatis* (A-K) fue el microorganismo más prevalente causante de ITS, seguido de *N. gonorrhoeae* en ambos grupos de hombres, y VHS-2 en las mujeres, muy similar a lo reportado a nivel mundial [1]. En este estudio también destacamos que en los tres grupos de pacientes se detectaron infecciones mixtas, hallazgo que ha sido reportado por otros estudios previamente [3,4,6,7,17,18].

C. trachomatis (A-K) es el microorganismo más prevalente causante de ITS a nivel mundial [1], y con este estudio se resalta su papel protagónico en los grupos de mujeres y hombres heterosexuales (**tabla 2**). Actualmente el diagnóstico se realiza con pruebas como inmunofluorescencia directa, cultivo, serología y pruebas moleculares para la detección de ácidos nucleicos, mediante técnicas de hibridación con sondas o amplificación de ácidos nucleicos mediante PCR, siendo esta última la prueba de elección y con mayor aplicación en el diagnóstico, dada su alta sensibilidad y especificidad [9,11,12,19-21]. Por su parte, *C. trachomatis* (L1-L3), como se puede observar en la **tabla 2**, predominó en los HSH; en ellos, todos los pacientes presentaron síntomas de proctitis, principalmente dolor y dificultad para defecar, secreción rectal, heces sanguinolentas y tenesmo, entre otros. Al revisar la literatura, encontramos el primer brote con 92 casos en Países Bajos, donde utilizaron la prueba de amplificación de ácidos nucleicos para *C. trachomatis* (BD MAX™ CT/GC/TV) con muestras de exudado y/o de tejido, con una sensibilidad del 95,7 % y una especificidad del 99,2 % [22,23]; posteriormente se diagnosticaron en Europa 2.000 casos en 22 países [24].

N. gonorrhoeae, después de *C. trachomatis* (A-K), ocupa el segundo lugar de

prevalencia en el mundo [1]. El diagnóstico se puede realizar mediante la coloración de Gram de una secreción (en el primer nivel de atención), que tiene una especificidad hasta del 99 % y una sensibilidad de más del 95 % para el diagnóstico de secreción uretral. Sin embargo, no tiene ninguna utilidad en pacientes asintomáticos. El cultivo (en el segundo nivel de atención), tiene una sensibilidad del 50 % al 85 %, siendo más baja cuando se va a tomar de sitios extragenitales y en individuos asintomáticos. Por último, está la prueba de PCR (en el tercer nivel de atención), siendo esta la prueba de más alta sensibilidad y especificidad, ambas muy cercanas al 100 % [9,11,12,20,21,25].

M. genitalium solo se reportó en nuestro medio por primera vez cuando se implementó la prueba de PCR [26], considerándose el mejor método diagnóstico [9,19,20,25], debido a que su detección con las pruebas convencionales no es posible, y el cultivo puede demorarse hasta 6 meses [26]. La mayoría de los casos de infecciones por *M. genitalium* son asintomáticos, como lo reportado en otros estudios con pacientes HSH [27].

Por su parte, para los VHS-1 y VHS-2 se cuenta con tres pruebas diagnósticas: test de Tzanck, que reporta células gigantes multinucleadas, pero no diferencia el tipo herpes; cultivo, con una sensibilidad del 30 % al 70 %, que se puede demorar hasta 3 días; y la amplificación de ácidos nucleicos por PCR, la cual se considera la prueba más indicada, con una sensibilidad del 96,7 % al 100 % [9,20,25,28].

Con respecto a *T. pallidum*, las pruebas más recomendadas para el diagnóstico de sífilis cuando hay lesiones activas (sífilis primaria y secundaria), son el campo oscuro y la inmunofluo-

rescencia directa (IFD); el campo oscuro se realiza en algunos laboratorios y la IFD no se hace en nuestro medio. Las pruebas de biología molecular como la PCR para *T. pallidum*, en la mayoría de los estudios, muestran una sensibilidad en lesiones primarias y secundarias entre el 75 % y el 95 % [29]; además, es la más recomendada por la OMS [20].

El diagnóstico de infección por *T. vaginalis* se puede realizar según los niveles de atención. Para el primer y segundo nivel de atención, se realiza examen directo en solución salina, en tanto que para el tercer nivel de atención, se utiliza la amplificación de ácidos nucleicos por PCR, siendo esta la más sensible de todas las pruebas [9,18,25]. Es de resaltar que este microorganismo en estudios previos es de muy baja prevalencia en Colombia, como se observó en este estudio y en otros previamente publicados [30].

Conclusiones

Teniendo en cuenta la frecuencia de infecciones polimicrobianas, los casos de individuos asintomáticos y los inconvenientes de las pruebas tradicionales, las pruebas de PCR, en este caso PCR múltiple con dot-blot reverso, son pruebas altamente sensibles, específicas y rápidas, que permiten el diagnóstico de los microorganismos responsables de ITS como *Chlamydia trachomatis* (A-K), *Chlamydia trachomatis* (L1-L3), *Haemophilus ducreyi*, VHS-1 y VHS-2, *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Treponema pallidum*, *Trichomonas vaginalis* y dos especies de *Ureaplasma (urealyticum/parvum)*, con la ventaja adicional que se pueden detectar coinfecciones y procesar diferentes tipos de muestras clínicas de manera simultánea. Sin embargo,

se debe aclarar que en el Laboratorio Clínico VID no se reporta *Mycoplasma hominis* ni *Ureaplasma (urealyticum/parvum)*, debido a que su papel como responsables de ITS no ha sido reconocido por muchos autores [1,2,9,19-21,31], por consiguiente, estos microorganismos no se tuvieron en cuenta en este estudio.

Después del desarrollo de este estudio queda la inquietud: Cuando se detecta más de un microorganismo en un paciente, ¿cuál o cuáles de estos microorganismos es o son los responsables de las manifestaciones clínicas del paciente para dar tratamiento? Pregunta que seguramente no se podrá responder con los resultados actuales. No obstante, se considera que se debe administrar tratamiento para todos los microorganismos detectados, puesto que cada uno de ellos o varios podrían ser responsables de la clínica del paciente, y a su vez, con el tratamiento se suspende la posibilidad de su transmisión a otros individuos, por tanto, es claro que también todos los portadores asintomáticos deben recibir tratamiento. Es importante resaltar que este hallazgo de infecciones simultáneas solo se detecta con el uso de la técnica de PCR y no con los métodos tradicionales para el diagnóstico de ITS, puesto que con estos métodos se debe hacer una prueba para cada microorganismo. Por lo que se puede concluir que el desarrollo de esta prueba para el diagnóstico de ITS, ha sido un gran avance que permite detectar los agentes responsables de ITS, tanto en pacientes sintomáticos como asintomáticos.

Referencias

1. **World Health Organization (WHO).** Sexually transmitted infections (STIs), keynotes. Ginebra, Suiza: WHO; 2022. Acceso 25 de enero

- de 2022. Disponible en [https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-\(stis\)](https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/sexually-transmitted-infections-(stis)).
2. **Workowski KA, Bachmann LH, Chan PA, Johnston CM, Muzny CA, Park I, et al.** Sexually transmitted infections treatment guidelines, 2021. *MMWR Recomm Rep* 2021;70:1-187. <https://doi.org/10.15585/mmwr.rr7004a1>.
 3. **Liang YY, Zhai HY, Li ZJ, Jin X, Chen Y, Chen SP.** Prevalence of *Ureaplasma urealyticum*, *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* and herpes simplex virus in Beijing, China. *Epidemiol Infect* 2018;147:e59. <https://doi.org/10.1017/s0950268818003163>.
 4. **Barrientos-Durán A, de Salazar A, Álvarez-Estévez M, Fuentes-López A, Espadafor B, García F.** Detection of sexually transmitted disease-causing pathogens from direct clinical specimens with the multiplex PCR-based STD Direct Flow Chip Kit. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2020;39:235-241. <https://doi.org/10.1007/s10096-019-03686-w>.
 5. **Karellis A, Naeem F, Nair S, Mallya SD, Routy JP, Gahagan J, et al.** Multiplexed rapid technologies for sexually transmitted infections: a systematic review. *Lancet Microbe* 2022;3:e303-e315. [https://doi.org/10.1016/s2666-5247\(21\)00191-9](https://doi.org/10.1016/s2666-5247(21)00191-9).
 6. **Berçot B, Amarsy R, Goubar A, Aparicio C, Loeng HU, Segouin C, et al.** Assessment of coinfection of sexually transmitted pathogen microbes by use of the anyplex II STI-7 molecular kit. *J Clin Microbiol* 2015;53:991-993. <https://doi.org/10.1128/jcm.03370-14>.
 7. **Choe HS, Lee DS, Lee SJ, Hong SH, Park DC, Lee MK, et al.** Performance of Anyplex™ II multiplex real-time PCR for the diagnosis of seven sexually transmitted infections: comparison with currently available methods. *Int J Infect Dis* 2013;17:e1134-1140. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2013.07.011>.
 8. **Centers for Disease Control and Prevention (CDC).** Recommendations for the laboratory-based detection of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae*-2014. *MMWR Recomm Rep* 2014;63:1-19.
 9. **Tuddenham S, Hamill MM, Ghanem KG.** Diagnosis and treatment of sexually transmitted infections: A review. *JAMA* 2022;327:161-172. <https://doi.org/10.1001/jama.2021.23487>.
 10. **Herbst-de Cortina S, Bristow CC, Joseph-Davey D, Klausner JD.** A systematic review of point of care testing for *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, and *Trichomonas vaginalis*. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2016;2016:4386127. <https://doi.org/10.1155/2016/4386127>.
 11. **Vélez-Gómez DE, Torres-Vellojín N, Grajales-Zapata JC, McEwen-Ochoa JG, Martínez A, Ramírez-Lopera V, et al.** Prevalence of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* in the homeless population of Medellín, Colombia: a cross-sectional study. *BMJ Open* 2022;12:e054966. <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2021-054966>.
 12. **Montoya-Rendón C, Jiménez-Giraldo J.** Enfermedad y miedo: clamidiasis y gonorrea en personas con experiencia de vida en la calle. Medellín, 2019-2020. Facultad Nacional de Salud Pública, Universidad de Antioquia, Medellín 2021. <https://hdl.handle.net/10495/18721>.
 13. **Kebbi-Beghdadi C, Aeby S, Baud D, Greub G.** Evaluation of a multiplex real-time PCR assay for detecting *Chlamydia trachomatis* in vaginal samples. *Diagnostics (Basel)* 2022;12:1141. <https://doi.org/10.3390/diagnostics12051141>.
 14. **Hasick N, Kim RR, Xu Y, Bone S, Lawrence A, Gibbs C, et al.** PlexProbes enhance qPCR multiplexing by discriminating multiple targets in each fluorescent channel. *PLoS One* 2022;17:e0263329. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0263329>.
 15. **Zúñiga-Carrasco I, Lozano JC.** *Mycoplasma genitalium*: un patógeno emergente de transmisión sexual. *Rev Latin Infect Pediatr* 2018;31:149-151.
 16. **Soni S, Horner P, Rayment M, Pinto-Sander N, Naous N, Parkhouse A, et al.** British Association for Sexual Health and HIV national guideline for the management of infection with *Mycoplasma genitalium* (2018). *Int J STD AIDS* 2019;30:938-950. <https://doi.org/10.1177/0956462419825948>.
 17. **Klavs I, Milavec M, Berlot L, Kustec T, Grgič-Vitek M, Lavtar D, et al.** Prevalence of sexually transmitted infections with *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Mycoplasma genitalium* and *Trichomonas vaginalis*: findings from the National Survey of Sexual Lifestyles, Attitudes and Health, Slovenia, 2016 to 2017. *Euro Surveill*

- 2022;27:2100284. <https://doi.org/10.2807/1560-7917.Es.2022.27.14.2100284>.
18. **Lee SJ, Jang TS, Jeon JS, Kim JK.** Coinfections with multiple sexually transmitted pathogens in Republic of Korea, 2018-2020. *J Clin Lab Anal* 2022;36:e24682. <https://doi.org/10.1002/jcla.24682>.
 19. **Estrada S, López C, Quintero D, Arango C.** Etiología de las infecciones de transmisión sexual (ITS) por la técnica de PCR múltiple, en pacientes atendidos en el Laboratorio Clínico VID, Medellín. XII Encuentro Nacional de Investigación en Enfermedades Infecciosas III Encuentro Latinoamericano de Investigación en Enfermedades Infecciosas 2022;Resumen 27, *Infectio*:23.
 20. **World Health Organization (WHO).** Guidelines for the management of symptomatic sexually transmitted infections. Ginebra, Suiza: World Health Organization; 2021. Acceso 15 de mayo de 2022. Disponible en <https://www.who.int/publications/i/item/9789240024168>.
 21. **Public Health Agency of Canada.** Canadian Guidelines on sexually transmitted infections. Laboratory diagnosis of sexually transmitted Infections. Ottawa, Canada: Public Health Agency of Canada; 2016. Acceso 10 de abril de 2022. Disponible en https://ipac-canada.org/photos/custom/Members/pdf/Laboratory%20Diagnosis%20of%20STI_April%202017_final-5.pdf.
 22. **Centers for Disease Control and Prevention (CDC).** Lymphogranuloma venereum among men who have sex with men-Netherlands, 2003-2004. *MMWR* 2004;53:985-988.
 23. **Kawa D, Kostihá B, Yu JH, LeJeune M.** Elevating the standard of care for STIs: the BD MAX™ CT/GC/TV assay. United States: BD Life Sciences- Diagnostic Systems; 2017. Acceso 15 de abril de 2022. Disponible en <https://moleculardiagnosics.bd.com/wp-content/uploads/2017/08/CT-GC-TV-Whitepaper.pdf>.
 24. **European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC).** Lymphogranuloma venereum. Annual epidemiological report for 2016. Stockholm: ECDC; 2018. Acceso 20 de mayo de 2022. Disponible en <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/lymphogranuloma-venereum-annual-epidemiological-report-2018>.
 25. **Estrada S, Escandón K, Gaviria Á, Mejía L, Marín J.** Protocolos de diagnóstico y tratamiento de las infecciones de transmisión sexual, Colombia, 2022. *Infectio* 2022;26:250-261. <https://doi.org/10.22354/24223794.1058>.
 26. **Estrada-Mesa S, Jaramillo-Gómez A, López-Jaramillo C.** El diagnóstico de Infecciones de transmisión sexual por la técnica de biología molecular es la mejor estrategia para su diagnóstico oportuno y específico. Un caso clínico. *Infectio* 2021;25:135-137. <https://doi.org/10.22354/in.v25i2.932>.
 27. **Ring A, Balakrishna S, Imkamp F, Burkard S, Triet F, Brunschweiler F, et al.** High rates of asymptomatic *Mycoplasma genitalium* infections with high proportion of genotypic resistance to first-line macrolide treatment among men who have sex with men enrolled in the Zurich Primary HIV Infection Study. *Open Forum Infect Dis* 2022;9:ofac217. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofac217>.
 28. **Arshad Z, Alturkistani A, Brindley D, Lam C, Foley K, Meinert E.** Tools for the diagnosis of Herpes simplex virus 1/2: Systematic review of studies published between 2012 and 2018. *JMIR Public Health Surveill* 2019;5:e14216. <https://doi.org/10.2196/14216>.
 29. **Mosquera-Klinger G, Berrio S, Carvajal JJ, Juliao-Baños F, Ruiz M.** Proctitis ulcerada asociada a linfogranuloma venéreo. *Rev Gastroenterol Méx* 2021;86:313-315. <https://doi.org/10.1016/j.rgmx.2020.06.009>.
 30. **Estrada S, Vanegas C, Yepes SM, Ortiz V, Ruiz K, Gutiérrez G, et al.** Etiología infecciosa del flujo vaginal en mujeres atendidas en el Laboratorio Clínico VID de Medellín. *Hech Microb* 2016;5:63-68. <https://doi.org/10.17533/udea.hm.323250>.
 31. **Horner P, Donders G, Cusini M, Gomberg M, Jensen JS, Unemo M.** Should we be testing for urogenital *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma parvum* and *Ureaplasma urealyticum* in men and women? - A position statement from the European STI Guidelines Editorial Board. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2018;32:1845-1851. <https://doi.org/10.1111/jdv.15146>.